

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

REC'D 18 JUL 2003

WIPO

PCT

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen:

102 27 044.9

Anmeldetag:

17. Juni 2002

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

Anmelder/Inhaber:

Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der angewandten Forschung e.V., München/DE

Bezeichnung:

Pflanzliche Proteinpräparate (Isolate und Konzentrate) mit verbesserten sensorischen Eigenschaften durch enzymatische Behandlung des Rohstoffs mit einer Lipase während des Isolierungsprozesses

IPC:

A 23 J 3/14

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 19. Dezember 2002
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Nietisch

02F40196-IVV

Zusatzblatt zum Antrag auf Erteilung eines Patents

(6) Bezeichnung der Erfindung

Pflanzliche Proteinpräparate (Isolate und Konzentrate) mit verbesserten sensorischen Eigenschaften durch enzymatische Behandlung des Rohstoffs mit einer Lipase während des Isolierungsprozesses

02F40196-IVV

5 **Pflanzliche Proteinpräparate (Isolate und Konzentrate) mit verbesserten sensorischen Eigenschaften durch enzymatische Behandlung des Rohstoffs mit einer Lipase während des Isolierungsprozesses**

10 Zusammenfassung:

In der Lebensmittel- und Futtermittelindustrie werden in vielen Bereichen pflanzliche Proteinpräparate als Zutaten eingesetzt. Diese beeinflussen Produkte der Lebensmittelindustrie hinsichtlich ihrer funktionellen und sensorischen Eigenschaften. Hier sind Produktstabilität, Produkttextur oder Nährwert zu nennen.

15 Pflanzenproteine (z.B. Konzentrate oder Isolate aus Soja, Lupine u.a.) werden aus Saaten gewonnen, die einen Anteil von bis % an Fett und Fettbegleitstoffen enthalten. Durch Verfahren wie Pressen und/ oder Extraktion mit organischen Lösungsmitteln (n-Hexan, iso-Hexan oder CO₂) wird der überwiegende Teil der Lipidfraktion vor der Extraktion der Protein entfernt. Je nach Art der angewendeten Extraktion ist der verbleibende Anteil der Phospholipidfraktion im Proteinpräparat unterschiedlich hoch. Im Allgemeinen werden bei CO₂-extrahierten Saaten höhere Phospholipidwerte gefunden. Phospholipide neigen durch Oxidation während des Proteinisolierungs- und Trocknungsprozesses sowie bei der Lagerung zur Bildung von geruchs- und geschmacksbeeinträchtigenden Abbauprodukten (z.B. Hexanal).

25 Überraschenderweise konnte festgestellt werden, dass durch Einsatz einer Lipase (z. B. Lipopan F, Fa. Novozymes) während der Proteinextraktion Proteinpräparate hergestellt werden konnten, die deutlich bessere sensorische Eigenschaften aufwiesen als die vergleichbaren Produkte ohne Einsatz des Enzyms.

30 Die in der NMR- Spektroskopie gefundenen Werte für die geringeren Phospholipidgehalte dieser Proteinpräparate konnten durch eine sensorische Untersuchung bestätigt werden. Die Anwendung einer Lipase bei der Isolierung von Proteinisolaten führte zu deutlich besseren Produktqualitäten hinsichtlich des off- flavours.

35 Hintergrund:

Sensorische Eigenschaften pflanzlicher Proteinpräparate sind abhängig vom Restlipidgehalt, speziell von dem Anteil der Phospholipidfraktion. Durch Oxidation, Spaltung von Peroxiden und Hydroperoxiden zu Aldehyden, Ketonen und freien Fettsäuren, werden Geruch und Geschmack negativ beeinflusst (sog. off- flavour). Die Gewinnung von pflanzlichen Proteinpräparaten aus Ölsaaten erfolgt in der Regel durch Schälen und Flockieren sowie anschließender Entölung der Flocken mit organischem Lösungsmittel. Dadurch wird der Fettgehalt des Rohstoffes durch Anwendung thermisch schonender Verfahren (60–70°C; unterhalb der Denaturierungstemperaturen des Proteins) auf Werte von 1–2 % Restfett reduziert. Die verbleibenden Lipide reichern sich während der Proteinisolierung in der Proteinfraction an und beeinflussen die sensorischen Eigenschaften negativ (bitterer, ranziger Geschmack und Geruch). Dieser off-flavour wird bei der Anwendung der Proteinpräparate in Lebensmittel übertragen und ist unerwünscht. In der einer Untersuchungsreihe wurde während der Proteinisolierung alternativ zur herkömmlichen Proteinisolierung eine Lipase eingesetzt. Das Proteinpräparat Lipopan F der Firma Novozymes ist ein Enzym, dass Aktivitäten gegenüber Phospholipiden, Glycolipiden und Triglyceriden aufweist (1,3-spezifische Aktivität am Glyceringerüst) und eine Umwandlung wasserlöslicher Produkte beschleunigt. Diese Abbauprodukte der Restlipidfraktion sollten theoretisch während der Proteinisolierung mit ausgewaschen werden und somit die Herstellung von Produkten mit gesteigerter sensorischer Qualität ermöglichen (Verringerung der oxidierbaren Restfettbestandteile).

55

Ausführungsbeispiel:

Material und Methode:

5

1. Rohstoffe

- white flakes aus Lupine albus Typ Top hexanentölt und CO₂entölt

2. Enzym

10 - Lipasepräparat Lipopan F, Fa. Novozymes

3. Proteinisolierung

- Vorextraktion, zwei Proteinextraktionen

- Neutralisation, Sprühtrocknung

15 - Trocknung (Büchi: Laborsprühtrockner)

Das Enzympräparat wurde zur ersten Proteinextraktion im Überschuss zugegeben. Vor der Trocknung wurde das neutralisierte Proteinpräparat thermisch behandelt (80°C, 10 min).

Somit wurde das Enzym inaktiviert und eine lebensmittelrechtlich einwandfreie Anwendung gewährleistet.

20

Aus Vergleichbarkeitsgründen wurden sowohl die mittels Lipase- Einsatz hergestellten, als auch die herkömmlich isolierten Proteinisolate der thermischen Behandlung unterzogen.

25 4. Sensorik:

Mittels eines gemischt geschulten Panels (Zusammensetzung: 2 weiblich, 2 männlich, 2 Raucher, 2 Nichtraucher) wurden die Proteinisolate in einer Blindverkostung mit zufälliger Reihenfolge der Proben hinsichtlich der sensorischen Eigenschaften bewertet.

30 Ergebnisse:

Phospholipidgehalte:

Durch die NMR - Spektren Untersuchung konnte eine Reduktion der Phospholipide im Proteinisolat nachgewiesen werden.

35

Sensorik:

Aussehen/Farbe:

Farblich waren beide Rohstoffe (Hexan und CO₂entölt) weiß bis gelblich. Die Isolate mit und ohne Lipopan weiß.

40

Geruch:

Beide Rohstoffe hatten einen getreidigen, bohigen Geruch. Isolate mit und ohne Lipopan waren geruchsneutral.

45 Geschmack:

Die Rohstoffe wurden unterschiedlich von süß bis bitter und bohig bis metallisch beschrieben. Beide Rohstoffe hatte einen leicht ranzigen Nachgeschmack. Die herkömmlich extrahierten Isolate wurde beide als leicht ranzig und bitter beschrieben. Der Unterschied bestand darin, dass das hexanentölte Isolat zusätzlich als bohig und grün bezeichnet wurde. Die mit Lipase-Einsatz hergestellten Isolate wurden gegenüber den herkömmlich extrahierten Isolaten deutlich bevorzugt. Das hexanentölte Isolat mit Lipopan wurde als leicht grün, etwas fruchtig und süß beschrieben und hatte einen deutlich kräftigeren Geschmack als das CO₂-entölte Isolat. Das CO₂-entölte Isolat mit Lipopan wurde durch Begriffe wie getreidig, bohig grün, leicht bitter und metallisch beschrieben. Ein ranziger Nachgeschmack wurde für die mittels Lipase-Einsatz hergestellten Isolate nicht beschrieben

55

Zusammenfassung:

Pflanzenproteine (z.B. Konzentrate oder Isolate aus Soja, Lupine u.a.) werden aus Saaten gewonnen, die einen Anteil von 5 bis 21 % an Fett und Fettbegleitstoffen enthalten. Durch Verfahren wie Pressen und/ oder Extraktion mit organischen Lösungsmitteln (n-Hexan, iso-Hexan oder CO_2) wird der überwiegende Teil der Lipidfraktion entfernt. Je nach Art der angewendeten Extraktion ist der verbleibende Anteil der Phospholipidfraktion im Proteinpräparat unterschiedlich hoch. Im Allgemeinen werden bei CO_2 -extrahierten Saaten höhere Phospholipidwerte gefunden. Phospholipide neigen durch Oxidation während des Proteinisolierungs- und Trocknungsprozesses sowie bei der Lagerung zur Bildung von geruchs- und geschmacksbeeinträchtigenden Abbauprodukten (z.B. Hexanal). Durch Einsatz einer Lipase (Lipopan F, Novozymes) während der Proteinextraktion konnten Proteinpräparate hergestellt werden, die deutlich bessere sensorische Eigenschaften aufwiesen als die vergleichbaren Produkte ohne Einsatz des Enzyms. Die in der NMR- Spektroskopie gefundenen Werte für die geringeren Phospholipidgehalte konnten durch eine sensorische Untersuchung bestätigt werden. Die Anwendung einer Lipase bei der Isolierung von Proteinisolaten führte zu deutlich besseren Produktqualitäten hinsichtlich des off- flavours.

Hintergrund:

Sensorische Eigenschaften pflanzlicher Proteinpräparate sind abhängig vom Restlipidgehalt, speziell von dem Anteil der Phospholipidfraktion. Durch Oxidation, Spaltung von Peroxiden und Hydroperoxiden zu Aldehyden, Ketonen und freien Fettsäuren, werden Geruch und Geschmack negativ beeinflusst (sog. off-flavour). Die Gewinnung von pflanzlichen Proteinpräparaten aus Ölsaaten erfolgt in der Regel durch Schälen und Flockieren sowie anschließender Entölung der Flocken mit organischem Lösungsmittel. Dadurch wird der Fettgehalt des Rohstoffes durch Anwendung thermisch schonender Verfahren (60–70°C; unterhalb der Denaturierungstemperaturen des Proteins) auf Werte von 1–2 % Restfett reduziert. Die verbleibenden Lipide reichern sich während der Proteinisolierung in der Proteinfraction an und beeinflussen die sensorischen Eigenschaften negativ (bitterer, ranziger Geschmack und Geruch). Dieser off-flavour wird bei der Anwendung der Proteinpräparate in Lebensmittel übertragen und ist unerwünscht. In der hier vorgestellten Untersuchungsreihe wurde während der Proteinisolierung alternativ zur herkömmlichen Proteinisolierung eine Lipase eingesetzt. Das Proteinpräparat Lipopan F der Firma Novozymes ist ein Enzym, dass Aktivitäten gegenüber Phospholipiden, Glycolipiden und Triglyceriden aufweist (1,3-spezifische Aktivität am Glyceringerüst) und eine Umwandlung wasserlöslicher Produkte beschleunigt. Diese Abbauprodukte der Restlipidfraktion sollten theoretisch während der Proteinisolierung mit ausgewaschen werden und somit die Herstellung von Produkten mit gesteigerter sensorischer Qualität ermöglichen (Verringerung der oxidierbaren Restfettbestandteile).

Material und Methode:

1. Rohstoffe

- white flakes aus Lupine albus Typ Top hexanentölt und CO₂entölt

Die Rohstoffe wurden vom Fraunhofer IVV zur Verfügung gestellt.

2. Enzym

- Lipasepräparat Lipopan F, Fa. Novozymes

Das Enzympräparat wurde von der Firma Novozymes zur Verfügung gestellt.

3. Proteinisolierung

- Vorextraktion, zwei Proteinextraktionen

- Neutralisation, Sprühtrocknung
(Büchi: Laborsprühtrockner)

Das Enzympräparat wurde zur ersten Proteinextraktion im Überschuss zugegeben. Vor der Trocknung wurde das neutralisierte Proteinpräparat thermisch behandelt (80°C, 10 min).

Somit wurde das Enzym inaktiviert und eine lebensmittelrechtlich einwandfreie Anwendung gewährleistet.

Aus Vergleichbarkeitsgründen wurden sowohl die mittels Lipase-Einsatz hergestellten, als auch die herkömmlich isolierten Proteinisolate der thermischen Behandlung unterzogen.

4. Sensorik:

Mittels eines gemischt geschulten Panels (Zusammensetzung: 2 weiblich, 2 männlich, 2 Raucher, 2 Nichtraucher) wurden die Proteinisolate in einer Blindverkostung mit zufälliger Reihenfolge der Proben hinsichtlich der sensorischen Eigenschaften bewertet.

Ergebnisse:

Phospholipidgehalte:

Durch die NMR - Spektren Untersuchung konnte eine Reduktion der Phospholipide im Proteinisolat nachgewiesen werden.

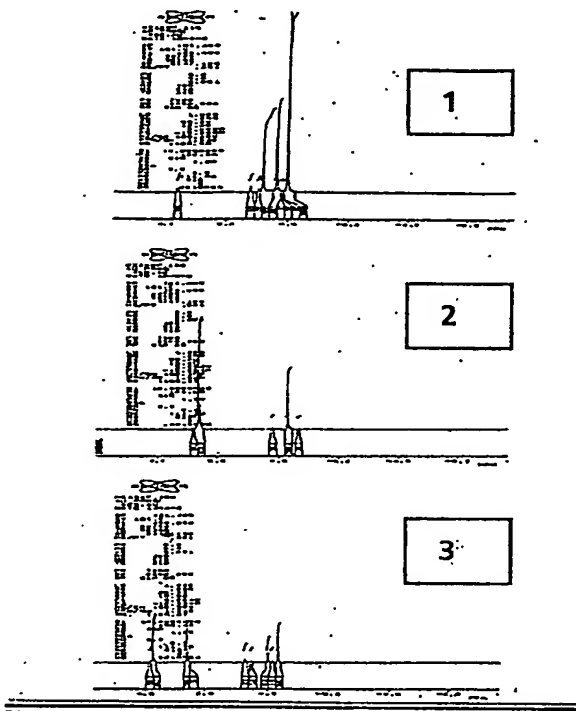
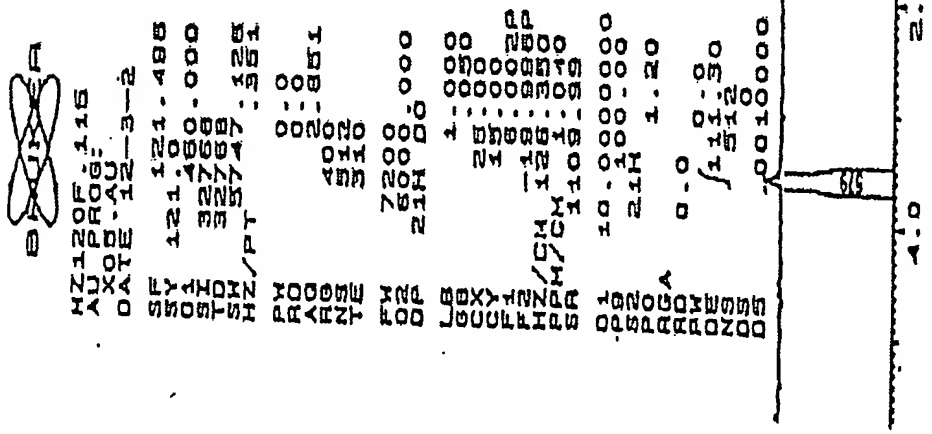


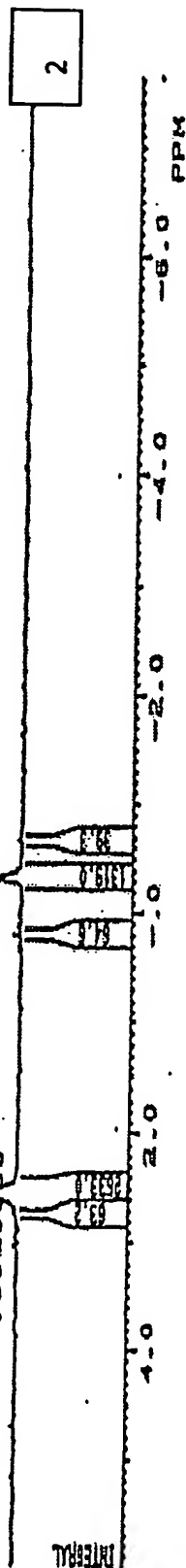
Abb. 1: Phospholipidgehalte NMR- Spektroskopie
1 Rohstoff, 2 Isolat, 3 Isolat mit Lipase Einsatz

1



BEST AVAILABLE COPY

DATE	DESCRIPTION	AMOUNT	CHECK NO.	BANK	INTEREST	TOTAL
1950-01-01	INITIAL DEPOSIT	100.00		CHASE		100.00
1950-01-15	PAYROLL	50.00	101	CHASE		50.00
1950-02-01	RENT	25.00	102	CHASE		25.00
1950-02-15	UTILITIES	10.00	103	CHASE		10.00
1950-03-01	SALES	75.00	104	CHASE		75.00
1950-03-15	PAYROLL	50.00	105	CHASE		50.00
1950-04-01	RENT	25.00	106	CHASE		25.00
1950-04-15	UTILITIES	10.00	107	CHASE		10.00
1950-05-01	SALES	75.00	108	CHASE		75.00
1950-05-15	PAYROLL	50.00	109	CHASE		50.00
1950-06-01	RENT	25.00	110	CHASE		25.00
1950-06-15	UTILITIES	10.00	111	CHASE		10.00
1950-07-01	SALES	75.00	112	CHASE		75.00
1950-07-15	PAYROLL	50.00	113	CHASE		50.00
1950-08-01	RENT	25.00	114	CHASE		25.00
1950-08-15	UTILITIES	10.00	115	CHASE		10.00
1950-09-01	SALES	75.00	116	CHASE		75.00
1950-09-15	PAYROLL	50.00	117	CHASE		50.00
1950-10-01	RENT	25.00	118	CHASE		25.00
1950-10-15	UTILITIES	10.00	119	CHASE		10.00
1950-11-01	SALES	75.00	120	CHASE		75.00
1950-11-15	PAYROLL	50.00	121	CHASE		50.00
1950-12-01	RENT	25.00	122	CHASE		25.00
1950-12-15	UTILITIES	10.00	123	CHASE		10.00
1951-01-01	SALES	75.00	124	CHASE		75.00
1951-01-15	PAYROLL	50.00	125	CHASE		50.00
1951-02-01	RENT	25.00	126	CHASE		25.00
1951-02-15	UTILITIES	10.00	127	CHASE		10.00
1951-03-01	SALES	75.00	128	CHASE		75.00
1951-03-15	PAYROLL	50.00	129	CHASE		50.00
1951-04-01	RENT	25.00	130	CHASE		25.00
1951-04-15	UTILITIES	10.00	131	CHASE		10.00
1951-05-01	SALES	75.00	132	CHASE		75.00
1951-05-15	PAYROLL	50.00	133	CHASE		50.00
1951-06-01	RENT	25.00	134	CHASE		25.00
1951-06-15	UTILITIES	10.00	135	CHASE		10.00
1951-07-01	SALES	75.00	136	CHASE		75.00
1951-07-15	PAYROLL	50.00	137	CHASE		50.00
1951-08-01	RENT	25.00	138	CHASE		25.00
1951-08-15	UTILITIES	10.00	139	CHASE		10.00
1951-09-01	SALES	75.00	140	CHASE		75.00
1951-09-15	PAYROLL	50.00	141	CHASE		50.00
1951-10-01	RENT	25.00	142	CHASE		25.00
1951-10-15	UTILITIES	10.00	143	CHASE		10.00
1951-11-01	SALES	75.00	144	CHASE		75.00
1951-11-15	PAYROLL	50.00	145	CHASE		50.00
1951-12-01	RENT	25.00	146	CHASE		25.00
1951-12-15	UTILITIES	10.00	147	CHASE		10.00
1952-01-01	SALES	75.00	148	CHASE		75.00
1952-01-15	PAYROLL	50.00	149	CHASE		50.00
1952-02-01	RENT	25.00	150	CHASE		25.00
1952-02-15	UTILITIES	10.00	151	CHASE		10.00
1952-03-01	SALES	75.00	152	CHASE		75.00
1952-03-15	PAYROLL	50.00	153	CHASE		50.00
1952-04-01	RENT					



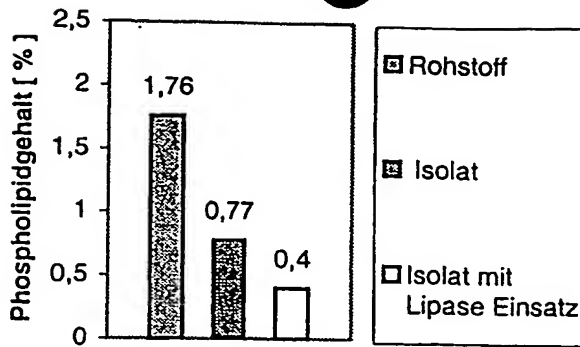


Abb. 1: Phospholipidgehalt von Rohstoff und Isolater aus hexanentölten Lupinen flakes

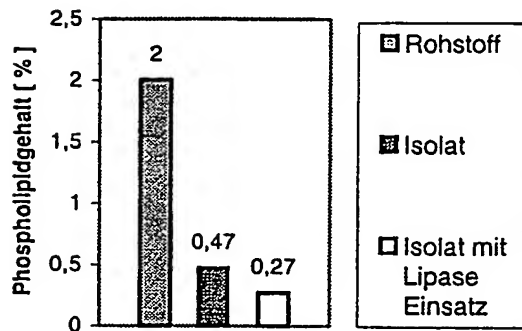


Abb. 2: Phospholipidgehalt von Rohstoff und Isolaten aus CO₂-entölten Lupinen flakes

Sensorik:

Aussehen/Farbe:

Farblich waren beide Rohstoffe (Hexan und CO₂-entölt) weiß bis gelblich. Die Isolate mit und ohne Lipopan weiß.

Geruch:

Beide Rohstoffe hatten einen getreidigen, bohnligen Geruch.

Isolate mit und ohne Lipopan waren geruchsneutral.

Geschmack:

Die Rohstoffe wurden unterschiedlich von süß bis bitter und bohlig bis metallisch beschrieben.

Beide Rohstoffe hatte einen leicht ranzigen Nachgeschmack.

Die herkömmlich extrahierten Isolate wurde beide als leicht ranzig und bitter beschrieben.

Der Unterschied bestand darin, dass das hexanentölte Isolat zusätzlich als bohlig und grün bezeichnet wurde.

Die mit Lipase-Einsatz hergestellten Isolate wurden gegenüber den herkömmlich extrahierten Isolaten deutlich bevorzugt.

Das hexanentölte Isolat mit Lipopan wurde als leicht grün, etwas fruchtig und süß beschrieben und hatte einen deutlich kräftigeren Geschmack als das CO₂-entölte Isolat.

Das CO₂-entölte Isolat mit Lipopan wurde durch Begriffe wie getreidig, bohlig grün, leicht bitter und metallisch beschrieben.

Ein ranziger Nachgeschmack wurde für die mittels Lipase-Einsatz hergestellten Isolate nicht beschrieben.

Literatur:

- [1] Cheftel, J.C.;Cuq J.L.;Lorient,D.: Lebensmittelproteine, Behr's Verlag
- [2] Bokisch, M., Nahrungsfette und- Öle, Eugen Ulmer Verlag
- [3] Bremer, P., Eiweißwunder Lupine, fit fürs Leben Verlag

PATENTANSPRÜCHE

5

1. Pflanzliche Proteinpräparate erhältlich durch....

10

gekennzeichnet durch.....

- verbesserte Stabilität (temperatur-unempfindlicher z. B. gegenüber einer Sprühtrocknung und lagerstabiler) hinsichtlich des Entstehens eines Fehlgeschmacks

- reduzierten Fettgehalt (.....%)

- reduzierten Phospholipidgehalt (.....%) gegenüber herkömmlichen Isolaten.

15

- verbesserte sensorische Eigenschaften (reduzierter Off-flavour) gegenüber herkömmlichen Isolaten (deutlich geringere Ranzigkeit in den Endprodukten und somit auch in der Lebensmittelapplikation)